

高效液相法测定康儿灵颗粒剂中紫丁香苷的含量

罗兴平^{1,2} 翟宗德¹ 赵艳芳¹ 明云飞¹ 徐培元² 陈立仁^{1*} 李永民¹

(1.中国科学院兰州化学物理研究所 兰州 730000 2.甘肃省药品检验所 兰州 730000)

康儿灵颗粒剂由刺五加、白术、莲子、茯苓等药味组成,具有益气健脾、开胃消食的功能,临床用于治疗小儿由于脾胃虚弱、运化失常导致的厌食症有很好的疗效。方中刺五加为主要药味,其主要有效成分为紫丁香苷,我们采用 HPLC 法建立了制剂中紫丁香苷的含量测定方法,方法简便、快速、重现性好、准确度高,可很好地控制制剂的内在质量。

1 仪器与试剂 岛津 LC-10ATvp 液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); SB5200 超声波清洗器(上海 Branson 公司); 紫丁香苷对照品(中国药品生物制品检定所,供含量测定用); 康儿灵颗粒(甘肃省中医院研制,批号 20030512, 20030515, 20030525); 乙腈(色谱纯); 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。

2 色谱条件

Diamonsil C18 柱(250mm×4.6mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-冰醋酸(25: 75: 1), 流速: 1.0ml/min; 检测波长 270nm。

3 实验方法与结果

3.1 样品溶液的制备 取本品 10g, 精密称定, 加水 25ml 使溶解, 移置分液漏斗中, 用氯仿提取 2 次, 每次 25ml, 弃去氯仿层, 水层用水饱和的正丁醇提取 4 次, 每次 25 ml, 合并正丁醇提取液, 用 10ml 水洗一次, 分取正丁醇层, 置蒸发皿中, 水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容至 10ml, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液。另取不含刺五加药材的阴性对照品, 同法制成阴性对照溶液。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取紫丁香苷对照品, 加甲醇制成 0.02mg/ml 的对照品溶液。

3.3 系统适应性试验 取供试品, 阴性空白样品及对照品溶液, 照 2 项色谱条件, 各进样 10 μl, 测得 HPLC 图谱, 见图 1。图谱表明阴性对照溶液色谱没有干扰。理论塔板数按紫丁香苷峰计算不低于 4000, 色谱分离度大于 1.5。

3.4 线性关系的考察 精密称取刺五加对照品, 加甲醇制成 0.05mg/ml 的溶液, 精密吸取上述溶液 1、2、4、6、8、10ml 于 10ml 容量瓶中加入甲醇稀释至刻度, 摇匀, 各进样 10 μl, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积值为纵坐标, 紫丁香苷量(μg)为横坐标绘制标准曲线, 计算的回归方程为:

$$Y=3251553X-1085 \quad r=0.9999$$

表明紫丁香苷在 0.05~0.5 μg 范围内具有良好线性关系。

3.5 精密度试验 取对照品溶液, 进样 10 μl, 重复进样 8 次, 结果峰面积的 RSD 为 0.99%。表明精密度良好。

表 1 精密度试验

峰面积	307865	305852	308745	310057
积分值	310322	301595	306828	310879
X	X=307768			RSD=0.99%

3.6 稳定性试验 取康儿灵颗粒剂样品溶液(批号为 20030512)在 0、0.5、1、2、3、4、5、6、7h 分别进样 10 μl, 记录峰面积, 结果峰面积的 RSD 为 1.07%。可见供试品溶液在 7 小时内稳定。

3.7 重现性试验 取康儿灵颗粒剂(批号为 20030512), 平行 6 份样品, 按样品测定法测定, 结果每袋含紫丁香苷分别为 0.118 mg、0.117 mg、0.113 mg、0.120 mg、0.119 mg、0.115 mg (RSD=2.23%, n=6) 表明本法重现性较好。

3.8 回收率试验 采用加样回收法, 取已知含量的康儿灵颗粒剂(批号 20030512 含量为 0.117mg/袋)样品 6 份, 精密称定, 分别精密加入紫丁香苷适量, 按样品溶液制备项下操作, 依法制备、进样、记录色谱图、计算回收率, 结果见表 2。

表 2 回收率实验结果

称样量 (g)	样品中紫丁香苷含量 (μg)	添加紫丁香苷的量 (μg)	测出紫丁香苷的总量 (μg)	回收率 (%)	X (%)	RSD (%)
5.0412	58.98	60.8	118.94	98.62		
5.0278	58.82	60.8	119.25	99.39		
5.0054	58.56	60.8	116.67	95.58	97.66	1.49
5.0329	58.88	60.8	118.73	98.44		
5.0221	58.76	60.8	118.09	97.58		
5.0114	58.63	60.8	117.19	96.32		

3.9 样品测定 分别精密吸取对照品与样品溶液各 10μl, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录色谱图, 以外标法计算样品中紫丁香苷的含量, 结果见表 3。

表 3 样品测定结果 (n=3)

批号	紫丁香苷含量 (mg/袋)	RSD (%)
20030512	0.117	0.54
20030515	0.129	0.37
20030525	0.121	0.59

4. 讨论

4.1 康儿灵颗粒剂收载于卫生部药品标准中药成方制剂第十三册, 但原质量标准仅有橙皮苷的薄层鉴别, 没有相应的含量测定指标, 药品的内在质量无法有效控制。方中刺五加为主要药味, 其主要有效成分为紫丁香苷, 本文采用 HPLC 法建立了制剂中主要药味刺五加所含有效成分紫丁香苷的含量测定方法, 方法简便、快速、重现性好、准确度高, 可很好地控制制剂的内在质量。

4.2 刺五加及其制剂中紫丁香苷的含量测定方法已报道的有薄层扫描法[1]、高效液相色谱法[2-5], 本文选用 HPLC 法测定康儿灵颗粒剂中紫丁香苷的含量, 方法简便、准确, 灵敏度高, 可很好的控制制剂的内在质量。

4.3 康儿灵颗粒剂为中药复方制剂, 成分复杂, 试验中曾试用甲醇-水-冰醋酸、乙腈-水-冰醋酸、乙腈-水-磷酸等多种溶剂系统进行分离, 确定以乙腈-水-冰醋酸 (25:75:1) 为流动相, 紫丁香苷的分离良好, 阴性对照没有干扰。

关键词 康儿灵颗粒剂; 紫丁香苷; HPLC

参考文献

- 1 许正斌 王明禹. 刺五加在贮藏中几种成分的古量变化. 中草药, 1984, 15(1): 15
- 2 张清波 刘丽娟. HPLC 法测定刺五加中紫丁香苷的含量. 黑龙江医药, 2001, 14(6): 428
- 3 郑健 刘玉珍等. 反相高效液相色谱法测定刺五加注射液中丁香苷的含量. 中成药, 2000, 22(4): 263
- 4 杨水新 赵国忠等. 高效液相色谱法测定刺五加注射液中紫丁香苷的含量. 药物分析杂志, 2001, 21(1): 16
- 5 林彤 梁广华. 高效液相色谱法测定救必应及其制剂中丁香苷的含量. 中国中药杂志, 2000, 25(11): 671

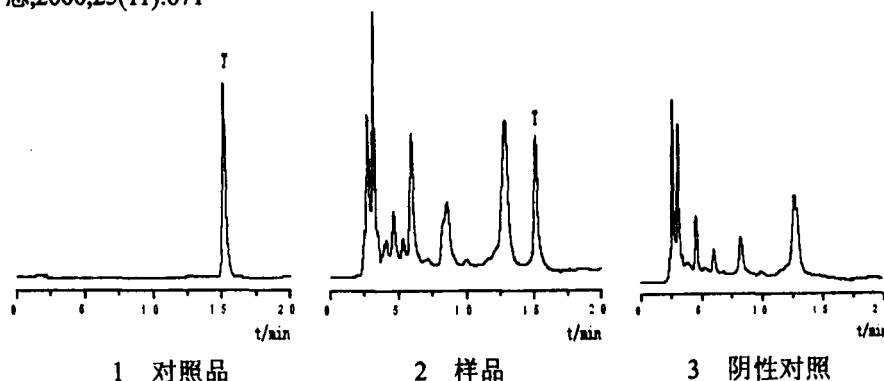


图 液相色谱图(T-紫丁香苷)